

COVERED MICROSPHERE PREPARATION AND ITS PRODUCTION

Patent Number: **JP9110678**

Publication date: **1997-04-28**

Inventor(s): **MURAKAMI HIDEKI;; HARADA MASANOBU;; YOSHINO KOUSUKE;; MIZOBE MASAKAZU;; KAWASHIMA YOSHIAKI**

Applicant(s): **TANABE SEIYAKU CO LTD**

Requested Patent: **JP9110678**

Application Number: **JP19950271249 19951019**

Priority Number(s):

IPC Classification: **A61K9/52; A61K47/32; A61K47/34**

EC Classification:

Equivalents:

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a covered nanosphere exhibiting extremely high dispersibility in re-dispersing in water after pulverized and having excellent properties as a covering material of a preparation by modifying the surface with polyvinyl alcohol.

SOLUTION: This covered microsphere is composed of a biodegradable polymer and the surface is modified with a polyvinyl alcohol molecule. To obtain the nanosphere, a hydrophilic solvent solution of a biodegradable polymer is preferably added to a polyvinyl alcohol solution and, e.g. a lactic acid-glycolic acid copolymer containing glycolic acid in a ratio of 0.14-1 to 1 of lactic acid and having about 10,000-100,000 average molecular weight may be used as the polymer.

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-110678

(43)公開日 平成9年(1997)4月28日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 61 K 9/52			A 61 K 9/52	H
47/32			47/32	Z
47/34			47/34	D

審査請求 未請求 請求項の数 5 OL (全 6 頁)

(21)出願番号	特願平7-271249	(71)出願人	000002956 田辺製薬株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号
(22)出願日	平成7年(1995)10月19日	(72)発明者	村上 秀樹 兵庫県芦屋市精道町6-15
		(72)発明者	原田 政信 大阪府大阪市淀川区加島3-13-31 田辺 製薬加島寮
		(72)発明者	吉野 廣祐 大阪府吹田市山田西2-8 A 9-101
		(72)発明者	溝邊 雅一 大阪府高槻市牧田町15-1-310
		(74)代理人	弁理士 笑浦 集夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 被覆マイクロスフェア製剤およびその製法

(57)【要約】

【課題】 生体内分解性ポリマーを用いたマイクロスフェアの溶出初期に、急激な薬物放出が生じる初期放出を抑制する。

【解決手段】 保護コロイドとしてポリビニルアルコールを使用し、分散相中の混合溶媒でゲル化を起こさせて得られるナノスフェアでマイクロスフェアの周囲を被覆することにより薬物の初期放出を抑制する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体内分解性ポリマーからなるナノスフェア。

【請求項2】 生体内分解性ポリマーのナノスフェアであって、該ナノスフェア表面がポリビニルアルコール分子で修飾されている請求項1記載のナノスフェア。

【請求項3】 薬物を含有するマイクロスフェアが生体内分解性ポリマーのナノスフェアで被覆されてなるマイクロスフェア製剤。

【請求項4】 ポリビニルアルコール水溶液中に、生体内分解性ポリマーの親水性溶媒溶液を添加することを特徴とするナノスフェアの製法。

【請求項5】 ポリビニルアルコール水溶液中に、生体内分解性ポリマーの親水性溶媒溶液を添加して得られるナノスフェアで、薬物を含有するマイクロスフェアを被覆することを特徴とするマイクロスフェア製剤の製法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は生体内分解性ポリマーのナノスフェア並びに該ナノスフェアで被覆されてなるマイクロスフェア製剤およびそれらの製法に関する。

【0002】

【従来の技術】生理活性物質の効果を長期間持続させる製剤として、生体内分解性ポリマーを用いたマイクロスフェアが極めて有用であり、その製造法が種々提唱されている。例えば特開昭60-100516、特開昭62-201816にW/O/W型、特開平1-216918にO/O型、特開昭63-91325にO/W型の技術が開示されている。

【0003】更に、W/O/W法やO/W法における、液中乾燥過程での油相の薬物が水相中に溶出してマイクロスフェア中への薬物の取込みが著しく低下するという問題を解決するための方法として、特開昭60-100516、同62-201816には、内水相中にゼラチンを溶解せしめたW/O/W法が開示されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、公知の相分離法、各種エマルションからの液中乾燥法で得られるマイクロスフェアでは、溶出の初期に急激な薬物放出が生じる初期放出を完全に抑制することは困難である。

【0005】これは液中乾燥操作時に油相中の薬物が水相に直接接触し、分配・拡散等によって容易に外相にリークしうる状態にあることが原因である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の問題点を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、保護コロイドとしてポリビニルアルコールを使用し、分散相中の混合溶媒でゲル化を起こさせて得られるナノサイズのラテックスは、その表面がポリビニルアルコールで修飾されているため、水への分散性がよく、製剤の添加物として種

々の有用性が見込めること、またこのナノスフェアで薬物の初期放出が懸念されるマイクロスフェアの周囲を被覆すれば、薬物の初期放出を阻止しうることを見だし、本発明を完成した。

【0007】かかる知見に基づく本発明は、生体内分解性ポリマーからなるナノスフェア並びに薬物を含有するマイクロスフェアが生体内分解性ポリマーのナノスフェアで被覆されてなるマイクロスフェア製剤およびそれらの製法である。

【0008】本発明のナノスフェアは、いわゆるナノメーター (nm) サイズの微粒子であって、生体内分解性ポリマーで構成されているものである。該ナノスフェアは、約50～約1000nm程度のサイズもの、好ましくは約50～約500nm、とりわけ約100～約300nm前後のサイズのものが好ましい。

【0009】ナノスフェアを構成する生体内分解性ポリマーとしては、生理活性を持たず、生体内で分解・消失する性質を有するポリマーであればどのようなものであってもよい。かかるポリマーとしては、例えば、乳酸、グリコール酸、リンゴ酸およびヒドロキシ酪酸などのホモポリマー、並びにこれらのコポリマーがあげられる。ポリ乳酸としては、平均分子量が約2000～約200000のもの、好ましくは平均分子量が約2000～約150000のものがあげられ、とりわけ平均分子量が約5000～約100000のものが好ましい。

【0010】ポリヒドロキシ酪酸としては、平均分子量が約2000～約200000のもの、好ましくは平均分子量が約2000～約150000のものがあげられ、とりわけ平均分子量が約5000～約100000のものが好ましい。

【0011】乳酸・グリコール酸コポリマーとしては、乳酸とグリコール酸がそれぞれ1:99～99:1の比率(組成比)で構成されるもの、好ましくは乳酸1に対してグリコール酸0.1～5の比率で構成されたものがあげられ、とりわけ乳酸1に対してグリコール酸が0.14～1の比率で構成されたものが好ましい。また乳酸・グリコール酸コポリマーはその平均分子量が約500～約200000のものがあげられ、好ましくは平均分子量が約8000～約150000のものがあげられ、とりわけ平均分子量が約10000～約100000のものが好ましい。

【0012】また、本発明のナノスフェアは、その表面がポリビニルアルコール分子により修飾されているため、粉末化後の水への再分散性に非常に優れるという特徴を有する。

【0013】この場合、本発明の特長である再分散性として、例えば水に分散させた場合の再分散性(後記実験例2で示すとおり)が、約0.8～約1.2の範囲である程度に修飾されていればよい。

【0014】かかるナノスフェアの表面を修飾するポリ

ビニルアルコールとしては、ケン化度が約75%～100%のものがあげられ、好ましくはケン化度が約80%～約88%のものがあげられる。

【0015】また、該ポリビニルアルコールとして好ましいものは、その重合度が約300～約2800のもの、とりわけその重合度が約300～約1000のものが好ましい。

【0016】本発明のもう一つの形態である、薬物を含有するマイクロスフェアが生体内分解性ポリマーのナノスフェアで被覆されてなるマイクロスフェア製剤は、上記のごときナノスフェアで被覆されたマイクロスフェアであればよい。

【0017】ナノスフェアで被覆されるマイクロスフェアは、その構成成分がナノスフェアと同様、生体内分解性ポリマーであるものが好ましい。生体内分解性ポリマーとしては、ナノスフェアの成分として詳述したものをお適に使用することができる。またマイクロスフェア中に封入される薬物としては、どのようなものであってもよく、例えば化学療法剤、抗生物質、呼吸促進剤、鎮咳去痰剤、抗悪性腫瘍剤、自律神経用薬剤、精神神経用薬剤、局所麻酔剤、筋弛緩剤、消化器官用薬剤、抗ヒスタミン剤、中毒治療剤、催眠鎮静剤、抗てんかん剤、解熱鎮痛消炎剤、強心剤、不整脈治療剤、利尿剤、血管拡張剤、抗脂血剤、滋養強壮薬剤、抗凝血剤、肝臓用薬剤、血糖降下剤、血圧降下剤、ホルモン剤などがあげられる。これらの薬物のマイクロスフェア中に封入量は、使用する薬物の薬理効果、有効血中濃度、マイクロスフェアからの薬物放出速度、投与対象患者の状態等を勘案して決定されるが、通常は、約0.01～約40% (w/w)、特に約0.01～約20% (w/w) が好ましい。

【0018】これらマイクロスフェアは、どのような方法によって製造されたものであってもよい。かかるマイクロスフェアとしては、例えば、O/W型エマルション、O/O/W型エマルションの各方法により製造されたものがあげられる。

【0019】O/W型エマルション法によるマイクロスフェア製法の一例をあげるとすれば、例えば水溶性薬物、生体内分解性ポリマーおよび第1の有機溶媒の混合物に、生体内分解性ポリマーには良溶媒であるが水溶性薬物には良溶媒となる第2の溶媒を加えて溶解させたのち、該溶液を水相に添加し、乳化させてO/W型エマルションとすることができます。

【0020】この場合、水溶性薬物、生体内分解性ポリマーと混合する第一の有機溶媒としては水への溶解性が低くかつポリマーの良溶媒であるものがあげられ、例えばクロロホルム、塩化メチレン、四塩化炭素などがあげられる。

【0021】また第2の溶媒としては、第1の有機溶媒よりも高沸点である溶媒があげられ、例えばメチルアル

コール、エチルアルコール、グリセリン、エチレングリコール、アセトニトリル、アセトン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルフォキシドなどがあげられる。

【0022】更に、O/O/W型エマルション法によるマイクロスフェア製法としては、例えば、特開平6-211648のように、2種以上の生体内分解性ポリマーを、それぞれ同一または相異なる水に混和しない有機溶媒に溶解し、一方に薬物を溶解または分散させた後、両者を混合してO/O型のエマルションを調製し、このエマルションを水中に分散してO/O/W型エマルションを調製して、多核マイクロスフェアとする方法があげられる。

【0023】この場合、O/O型エマルションは、薬物を一方の生体内分解性ポリマーの有機溶媒に溶解または分散し、これを同一の有機溶媒に溶解した別の生体内分解性ポリマー中に乳化するか、もしくは両ポリマーを溶解した有機溶媒溶液に薬物を加えて乳化する等の常法により容易に実施することができる。

【0024】この2種類のポリマーの組合わせは、それぞれの有機溶媒溶液は相溶せず、一方のポリマーが他方のポリマー中でアロイを形成するような組合わせであればなんでもよい。たとえば乳酸ホモポリマーと乳酸・グリコール酸コポリマーの組合わせがある。またこれら第1および第2ポリマーは、各々が2種以上のポリマーの混合物の形でも使用できる。

【0025】有機溶媒はO/O/W型のエマルションの油相であり、揮発性で水への溶解性が低く、かつポリマーの良溶媒であればどのようなものでもよい。たとえばクロロホルム、塩化メチレン、四塩化炭素などがあげられる。またこれら溶媒と相溶する溶媒（例えば、ジエチルエーテル、酢酸エチル等）を添加した混合溶媒も使用することが出来る。とくに、生体内分解性ポリマーとして、ポリ乳酸と乳酸・グリコール酸コポリマーを用いる場合には、塩化メチレンが望ましい。

【0026】

【発明の実施の形態】本発明のナノスフェアは、例えば生体内分解性ポリマーの親水性溶媒溶液を、ポリビニルアルコール水溶液中に添加することにより容易に製することが出来る。

【0027】この場合において、親水性有機溶媒に溶解される生体内分解性ポリマーの濃度は約0.1～約15%、好ましくは約0.5～約10%であり、とりわけ約0.5～約4%であるのが好ましい。また、該ポリマー溶液を添加するポリビニルアルコール水溶液の濃度は、約0.5～約20%、好ましくは約2～約15%であり、とりわけ約4～約10%であるのが好ましい。

【0028】添加温度は、約4～約50°C、好ましくは約4～約30°Cであり、とりわけ約15～約25°Cあるのが好ましい。添加に際しては、比較的ゆるやかなかく拌下に添加すればよいが、かく拌は必ずしも必要ではな

い。

【0029】親水性溶媒としては、例えばメチルアルコール、エチルアルコール、アセトン、テトラヒドロフランなどの溶媒があげられ、これらは1種類のみならず、2種以上を組み合わせて使用することができる。このうち、とりわけアセトンとメチルアルコール、またはアセトンとエチルアルコールの組合せが好ましい。これにより、好適にナノスフェアを製造することができる。例えば溶媒としてアセトンとエチルアルコールを使用し、生体内分解性ポリマーとして乳酸・グリコール酸コポリマーを使用する場合であれば、まず乳酸・グリコール酸コポリマーのアセトン-エチルアルコール溶液を、高濃度のポリビニルアルコール水溶液に添加すると、まず乳酸・グリコール酸コポリマーの貧溶媒であるエチルアルコールが水相中に拡散し、界面においてポリビニルアルコールがゲル化し、コアセルベーションを形成する。

【0030】さらにこのコアセルベーションから、乳酸・グリコール酸コポリマーの良溶媒であるアセトンが水中へ拡散し、乳酸・グリコール酸コポリマーのコアセルベーションが形成される。そして溶媒がすべて拡散した時点で油相が固化してナノスフェアを得ることが出来る。

【0031】かくして得られたナノスフェアは、例えば凍結乾燥、超遠心分離、透析、などの微粒子単離方法により、容易に単離することができる。

【0032】また、水懸濁液として、製剤用途、例えばマイクロスフェアの被覆等に使用するときは、限外ろ過によりポリビニルアルコールを除去し、ナノスフェアの水懸濁液として使用することができる。

【0033】また、本発明によれば、マイクロスフェアの被覆は、マイクロスフェアを調製する際の水相に、ナノスフェアの懸濁液を用いることによって実施することができる。基本的には、マイクロスフェアの液滴が充分固化する前の、濃厚溶液状態にあるときに、ナノスフェアが液滴に取り込まれることによって実現される。

【0034】かく拌条件は、マイクロスフェアの液滴が破壊されないような条件下であれば特に限定されない。また温度条件も安定なマイクロスフェアの液滴が形成され難いような温度でなければ、特に限定されない。乳化操作は、プロペラ式かく拌機、ターピン型乳化機、超音波分散装置または高圧乳化機などにより容易に実施することができる。

【0035】この場合、マイクロスフェアの被覆は、該マイクロスフェアの液滴の固化状態とナノスフェアの量により調整することができ、マイクロスフェアの液滴が殆ど固化していない時期にナノスフェアの懸濁液中にナノスフェアを充分量添加した場合には、強固かつ膜厚の厚い皮膜を形成することができる。かかる膜厚の調整は、当業者であれば、容易に適切な条件を見出すことが出来る。

【0036】液中乾燥は加熱法、減圧法等の常法により実施することができ、例えば、加熱法ではプロペラ型またはターピン型かく拌機でエマルションをかく拌しながら、昇温し、溶媒の留去を行う。

【0037】このかく拌速度は装置および仕込み量により若干変動するが、約10～約25000 rpm、特に好ましくは約50～約10000 rpmである。温度は約0.5～約4時間かけて上昇させる。始めの温度は約0～約25°C、上昇後の最高温度は約25～約50°Cが好ましい。また減圧法では、エマルションをロータリー-エバボレーターのような適当な減圧装置で徐々に減圧して約0.1～約50mm/Hgとし溶媒の留去を行う。液中乾燥法により得られた被覆マイクロスフェアは遠心分離またはろ過などの適当な方法により分取し、精製水にて洗浄を行い、風乾または真空乾燥などにより溶媒を完全に留去させることにより、取得することができる。

【0038】つぎに、実施例をあげて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0039】

【実施例】

実施例1（ナノスフェアの調製）

500mgのポリ乳酸（平均分子量5000）（PLA）をアセトン7.5mlとエタノール5mlの混合溶媒に溶解したポリ乳酸溶液を、けん化度80%、重合度300のクラレボーラル（クラレ製）2gを精製水48gに溶解した水溶液中に、かく拌下（400 rpm）に添加することにより、PLAナノスフェアが瞬時に生成された。

【0040】生成したPLAナノスフェアの水懸濁液中の平均粒子径を、電気泳動光散乱光度計（ELS-800、大塚電子製）で動的光散乱法により測定したところ、200nmであった。

【0041】ついで、PLAナノスフェア懸濁液中のアセトンを減圧除去し、これに水を添加する。PLAナノスフェア懸濁液を限外済過装置（ミニタンシステム、ミリポア製）により濃縮する。濃縮、希釈を繰り返すことによって、PLAナノスフェアを水のみに分散した懸濁液を得た。ついで、この懸濁液を凍結乾燥機で乾燥することによって、PLAナノスフェアの粉末を得た。

【0042】この粉末化PLAナノスフェアを水に分散させたところ、分散性は良好でそのときの粒子径もまた凍結乾燥する前とほとんど変化しなかった。

【0043】実施例2（ナノスフェアの調製）

ポリ乳酸（平均分子量5000）に代えて、500mgの乳酸・グリコール酸コポリマー（組成比：75:25、平均分子量20000）（PLGA）を用いる以外は実施例1と同様に実施することによって、平均粒子径は250nm、多分散指数は0.013のPLGAナノスフェアを得た。

表2

ポリマー (組成比)	平均分子量	再分散性
乳酸・グリコール酸コポリマー (75:25)	5000	1.07
	10000	1.01
	20000	1.00
乳酸・グリコール酸コポリマー (85:15)	12000	1.02
	47000	1.01
	87000	1.03
	128000	0.91
ポリ乳酸	5000	0.99
	10000	0.89
	20000	1.04

【0055】

【数1】

$$\text{再分散性} = \frac{\text{粉末化ナノスフェアを水に再分散した時の平均粒子径}}{\text{生成直後の平均粒子径}}$$

【0056】実験例3

＜実験方法＞実施例5と同様にして得たマイクロスフェアおよび下記比較例によって製造された対照のマイクロスフェアを、Tween 80を0.02%含有したpH 7.4の等張リン酸緩衝液中、37°Cで溶出試験を行い、5時間後のインスリン溶出量を高速液体クロマトグラフィーにより測定し、初期放出率を比較した。

【0057】比較例

実施例5において、①のナノスフェアの水分散液に代えて、250mgのポリビニルアルコールを精製水50m

lに溶解した溶液を用いた以外は、実施例5と同様に実施して、対照となる被覆層のないインスリン含有マイクロスフェアを調製した。

【0058】＜結果＞結果は表3に示す通りであり、PLAナノスフェアで被覆した本発明のマイクロスフェアは初期放出が見られなかつたのに対し、対照のマイクロスフェアはインスリンが初期放出していることがわかる。

【0059】

【表3】

表3

マイクロスフェア	薬物放出率 (%)
本発明のマイクロスフェア	0.0
対照のマイクロスフェア	23.2

【0060】

【発明の効果】本発明のナノスフェアは、その表面がポリビニルアルコールで修飾されているため、粉末化したナノスフェアを水に再分散した際には、極めて高い分散性を示し、例えば製剤の被覆材料として優れた性質を有している。通常のナノスフェアでは、例えば凍結乾燥して粉末化する場合には、再分散性を考慮して、凍結保護剤の添加を必要とすることからみれば、非常に大きな利点である。

【0061】このナノスフェア表面がポリビニルアルコール修飾されている理由は、おそらくナノスフェアを構成する生体内分解性ポリマーのカルボニル基とポリビニルアルコールの水酸基が水素結合を形成していることに

よると推測される。

【0062】また、本発明のナノスフェアは、その製造に際しても、通常必要とされるホモジナイザー、超音波処理機などの高エネルギーを用いた機器は不要であり、ゆるやかなく拌下に実施しうるという特長がある。更に水中乾燥が不要であるという利点も有している。

【0063】更に、本発明のナノスフェアの水懸濁液でマイクロスフェアを調製する方法は、従来の保護コロイド剤や界面活性剤などを溶解した溶液を用いる調製法とは全く異なる方法であり、表面を改質したマイクロスフェア（例えば、初期放出のないマイクロスフェアなど）を得ることができるという利点がある。

フロントページの続き

(72)発明者 川島 嘉明
岐阜市駿山下土居185